

Imagen molecular en medicina

Manuel Desco y Juan José Vaquero, Hospital General Universitario Gregorio Marañón

La imagen molecular se caracteriza, en el contexto de la imagen médica, por su capacidad para detectar y cuantificar en vivo procesos celulares a nivel molecular, lo que permite el estudio de dichos procesos de forma remota y no invasiva, sin perturbar el sistema en estudio.

El auge de la imagen molecular se debe, entre otras circunstancias, al reciente acercamiento de la biología molecular y las tecnologías de imagen, y cabe esperar que en un futuro cercano se produzca una aceleración de la transferencia de estas técnicas a la práctica clínica.

Un concepto clave de este campo es el de “sonda para imagen molecular”. Se llama así a cualquier compuesto capaz de proporcionar, por una parte, un componente de afinidad o especificidad que determina la diana biológica a que se unirá y, por otra parte, un componente que permite su detección externa mediante diferentes técnicas de imagen. Es interesante resaltar que un mismo componente de afinidad puede unirse a diferentes componentes de detección, y eso facilita la elección de la técnica de imagen más adecuada.

Manuel Desco. Médico, ingeniero superior de Telecomunicaciones, especialista en Medicina Nuclear y doctor por la Universidad Complutense de Madrid. Jefe de la Unidad de Medicina y Cirugía Experimental del Hospital General Universitario Gregorio Marañón.

Juan José Vaquero. Doctor ingeniero de Telecomunicaciones y máster en Tecnología e Instrumentación Biomédica. Actualmente coordina las actividades de imagen molecular en el Laboratorio de Imagen Médica del Hospital General Universitario Gregorio Marañón.

El gran éxito que está teniendo la imagen molecular se debe en gran medida a la buena aceptación que tiene en aquellos campos de la biología molecular en los que tradicionalmente se ha trabajado con métodos *in vitro* y en los cuales el salto a la técnica *in vivo* supone un avance importante. Las claves de este éxito radican en la capacidad de desarrollar sistemas de imagen suficientemente sensibles, sondas de gran especificidad y métodos de amplificación para los casos en los que la sensibilidad sea baja.

Imagen nuclear

La medicina nuclear ha sido una técnica de imagen intrínsecamente molecular desde sus orígenes, y su uso clínico está ampliamente extendido en la actualidad. Las sondas para la imagen nuclear utilizan como componente de detección un átomo radiactivo cuyas emisiones pueden detectarse desde el exterior. Existen básicamente tres variantes: la imagen plana (gammagrafía), la tomografía de elementos emisores de fotón único (SPECT) y la tomografía de positrones (PET). La PET es la que mejores características presenta para la investigación biomédica, por su resolución, carácter cuantitativo y mayor sensibilidad (puede detectar concentraciones nanomolares). Además, el marcaje se realiza ➔



1: Gammagrafía de un esqueleto humano. 2: Resonancia magnética de cabeza humana. 3: Tomografía de elementos emisores de fotón único (SPECT)

con radioisótopos de elementos constituyentes de la materia orgánica, como el carbono, el oxígeno, el nitrógeno o el flúor, y eso amplía mucho el abanico de sustancias que se pueden marcar. Su mayor inconveniente deriva del hecho de que los radioisótopos utilizados tienen períodos de semidesintegración muy cortos, por lo que han de generarse en ciclotrones *in situ*, lo que complica y encarece su uso.

Una de las dificultades que debe afrontar la imagen nuclear (PET o SPECT) es su relativamente baja resolución espacial, que dificulta la identificación de las estructuras. De ahí surge el interés de utilizar simultáneamente otras modalidades de imagen estructural que aporten esa información anatómica, como, por ejemplo la tomografía de rayos X.

Tomografía de rayos X

La tomografía de rayos X (CT) aporta una información anatómica de gran valor. El contraste de las imágenes depende de un parámetro físico relativamente “simple”: el coeficiente de atenuación a los rayos X, directamente relacionado con la densidad del tejido. Podría decirse que no es una técnica de imagen molecular en el estricto sentido de la definición, pero ha demostrado ser una herramienta complementaria utilísima cuando se combina con otras modalidades de imagen funcional, dado que aporta una información estructural que permite una mejor localización de las funciones representadas en la otra imagen.

Como contrapartida de la imagen de rayos X cabe mencionar, por un lado, el bajo contraste que presentan los tejidos blandos y, por otro, la dosis de radiación ionizante a la que expone la muestra, que no es despreciable y que limita el número de exploraciones que se pueden hacer en un mismo sujeto. Sus mayores ventajas son la simplicidad de manejo y que puede integrarse fácilmente con otras modalidades, en dispositivos de imagen híbrida.

Imagen de resonancia magnética

El mecanismo de producción de la imagen de resonancia magnética (MRI) es bastante complejo: la muestra debe colocarse en el seno de un potente campo magnético constante, habitualmente producido por un electroimán superconductor. La muestra se “ilumina” con impulsos de ondas de radio cuya frecuencia corresponde a la de resonancia de ciertos núcleos —habitualmente, el de hidrógeno—, y los tejidos devuelven esta energía que es captada desde el exterior por una bobina o antena. Las diferencias químicas de los entornos moleculares de esos núcleos y la abundancia de los mismos determinan el contraste de la imagen, en función de la secuencia de pulsos electromagnéticos aplicados a la muestra.

Es destacable la capacidad de la MRI para obtener información anatómica, funcional e, incluso, de composición química (mediante la llamada espectroscopia por resonancia magnética). La resolución espacial alcanzada depende del equipo y de la secuencia utilizada, y se llega, incluso, a la obtención de imágenes microscópicas (10 μ m de resolución) con instrumentos especializados de alto campo.

La principal limitación de la MRI como técnica de imagen molecular es su relativamente baja sensibilidad, del orden de mili a micromolar. Esta baja sensibilidad hace muy aconsejable el desarrollo de mecanismos de amplificación que permitan aumentar la señal; para ello se utilizan cationes metálicos convenientemente quelados, o incluso nanopartículas.

las superparamagnéticas. El desarrollo de estos agentes de contraste constituye un área de investigación muy prometedora, sobre todo en lo relativo a agentes de contraste inteligentes, que se activan o desactivan en presencia de una determinada enzima, cambiando selectivamente las propiedades paramagnéticas del entorno en el que se encuentran.

Imagen óptica

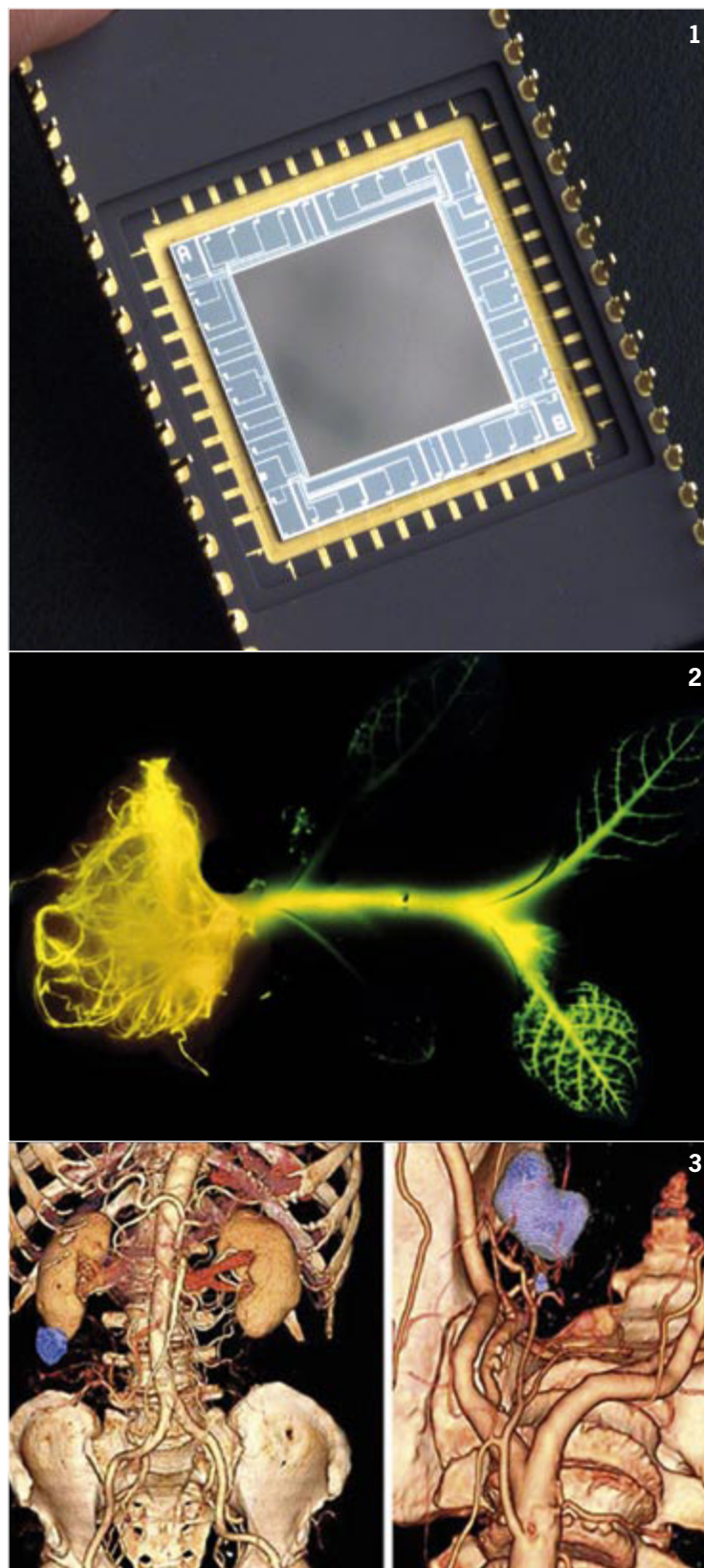
La imagen óptica es probablemente la técnica más extendida actualmente en la investigación biomédica para su uso *in vitro* y *ex vivo*, debido a su sencillez y a su bajo coste. Existe una amplia disponibilidad de preparados o *kits* de laboratorio para realizar experimentos de bioluminiscencia y fluorescencia, sobre todo en microscopía. Sin embargo, su aplicación *in vivo* ha estado siempre limitada por las propiedades físicas de la radiación luminosa. Aún así, en los últimos años han aparecido técnicas —como la tomografía de coherencia óptica— que permiten realizar imágenes tomográficas con resoluciones en el rango de las decenas de micras. Además de esta alta resolución espacial, la imagen óptica presenta la ventaja de ofrecer una alta resolución temporal y una extraordinaria sensibilidad, que puede llegar a detectar concentraciones picomolares.

El traslado de la imagen óptica a la experimentación *in vivo* no está exento de complicaciones, que se derivan de la dificultad que supone la detección de la luz emitida en el interior del organismo vivo en estudio, dado que el tejido biológico presenta una cierta opacidad en las longitudes de onda de la radiación utilizada. Gracias al desarrollo de dispositivos muy sensibles tipo CCD (*charged coupled devices*, dispositivos acoplados en carga) se han podido transferir para uso *in vivo* técnicas en principio solo viables para cultivos celulares, si bien es verdad que en la mayoría de los experimentos con animales se prefiere utilizar ratones del tipo “desnudo”, cuya piel resulta especialmente transparente a las longitudes de onda utilizadas.

Por el momento, los avances más significativos se deben al diseño de nuevas sondas, de modo que es posible disponer de sondas basadas en proteínas de fluorescencia en el rojo, fluorocromos activables, sondas bioluminiscentes o combinaciones de ellas que, funcionando en diferentes zonas del espectro, permiten su utilización para realizar imágenes multicanal *in vivo*.

Los mecanismos más habituales son la fluorescencia y la bioluminiscencia. Dado que en la fluorescencia la emisión de luz depende de la luz incidente y no se origina como consecuencia de una reacción química, el tejido de interés deberá contener una sustancia que absorba la luz de excitación y que genere una emisión de luz como resultado. Lógicamente, la excitación ha de ser capaz de atravesar todos los tejidos intermedios hasta llegar al lugar de interés, y la emisión generada también debe ser capaz de llegar al exterior del cuerpo para poder ser detectada. Normalmente, cuando se diseñan estas sondas para uso *in vivo*, se procura que las emisiones se localicen alrededor del infrarrojo cercano (NIR, *near infrared*), dado que en esas longitudes de onda (de 700 a 900 nm, aproximadamente) la penetración en el tejido biológico es mayor. A ello se debe el creciente interés en el desarrollo de sondas y contrastes con fluorescencia en el NIR.

Otro mecanismo de producción de luz es la bioluminiscencia. En este caso, la producción de luz es el resultado de un proceso biológico que normalmente se habrá asociado a la función que se esté estudiando. La



1: Dispositivo CCD de captura de imagen óptica de alta sensibilidad. 2: Planta de tabaco alterada genéticamente para producir luciferasa (Fuente revista Science). 3: Escaner PET/CT de un cáncer de colon (Fuente National Cancer Center, Japón).



Sonograma de un feto humano de 6 meses.

bioluminiscencia es un fenómeno habitual en la naturaleza y, si bien la química subyacente difiere dependiendo de la especie, el mecanismo es siempre similar: un sustrato, la luciferina, interactúa con la enzima luciferasa, dando lugar a la emisión de fotones de luz. La gran ventaja de esta técnica es que no existe ruido de fondo, porque el animal en estudio no dispone de un sustrato endógeno para la luciferasa, por lo que la relación entre la señal y el ruido es muy alta.

Estas técnicas no están exentas de problemas que pueden restringir su uso. Probablemente la limitación más seria sea la debida a la transmisión de la radiación luminosa través del tejido biológico. Se calcula que, por cada centímetro de tejido, la señal se reduce en un orden de magnitud; además, esta atenuación y la dispersión asociada no son constantes y uniformes, ya que dependen del tejido. Todo ello limita seriamente la posibilidad de hacer estudios tomográficos, razón por la cual la mayoría de estos sistemas generan imágenes de proyección planar, lo que, a su vez, limita la posibilidad de realizar estudios cuantitativos. No obstante, hay trabajos recientes en los que, mediante el uso de excitaciones especiales y conjuntos de detectores colocados alrededor de la muestra, se consigue realizar imágenes tomográficas de fluorescencia con resoluciones de 3 milímetros aproximadamente.

Una última desventaja, también consecuencia de la limitada penetración de la radiación luminosa, es la difícil extrapolación de estas técnicas a estudios con humanos, a causa del mayor grosor de los órganos y tejidos.

Ecografía

De todas las técnicas comentadas hasta el momento, ésta es la única que no hace uso de radiación electromagnética para la formación de la imagen. La ecografía utiliza ondas acústicas que producen ecos al atravesar los diferentes tejidos. Esos ecos son detectados y procesa-

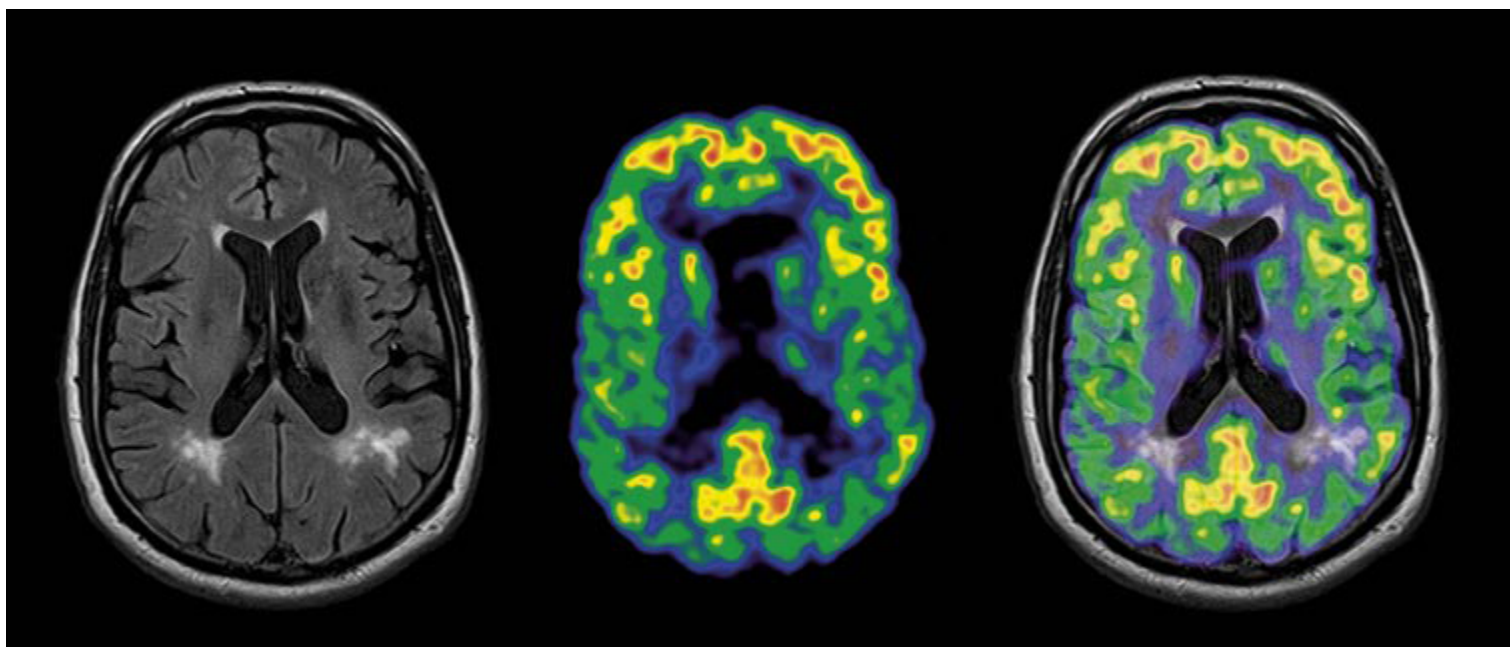


Imagen simultánea de MRI y PET de un cerebro humano. Fuente Siemens.

dos, y de ellos se extrae una serie de características mecánicas de la muestra explorada. De esta forma, y utilizando ultrasonidos de muy alta frecuencia (40 a 60 MHz), se pueden obtener, en pequeños animales, imágenes de muy alta resolución, entre 15 y 40 μm , dando lugar a lo que se denomina 'biomicroscopía por ultrasonidos'. Por tratarse de una técnica no invasiva y que no utiliza radiación ionizante, puede emplearse para el estudio del desarrollo embrionario o de la angiogénesis tumoral, además de las aplicaciones habituales en estudios de la función cardiaca o circulatoria y microcirculatoria, mediante el uso del efecto Doppler.

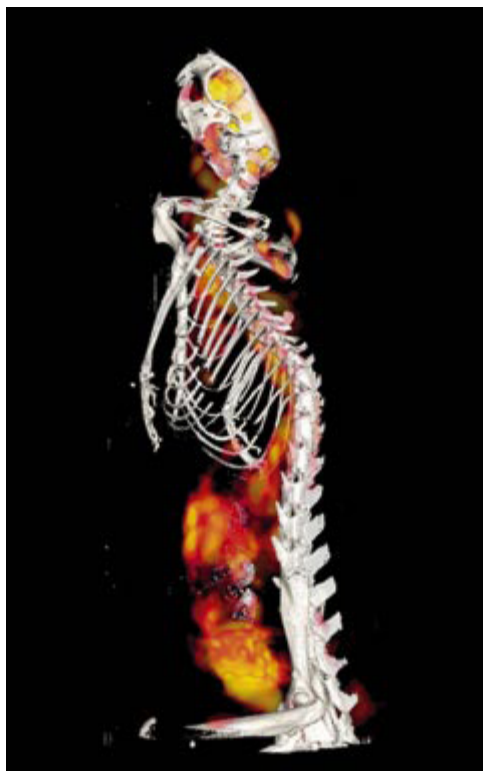
Están, también, los recientes avances en el diseño de agentes de contraste, que se pueden dividir en dos grandes grupos. El primero lo constituyen los contrastes intravasculares (como las microburbujas de perfluorocarbono o aire encapsuladas en un polímero que se destruye al ser expuesto a los ultrasonidos), que abren un amplio abanico de aplicaciones centradas, principalmente, en el estudio de la microvascularización. El otro grupo lo constituyen los contrastes dirigidos a receptores de membranas celulares, que utilizan nanopartículas ligadas al marcador que modifican las propiedades mecánico-acústicas del tejido al que se ligan. Estos contrastes abren nuevos campos a la investigación y al uso de los ultrasonidos como técnica de imagen molecular.

Multimodalidad

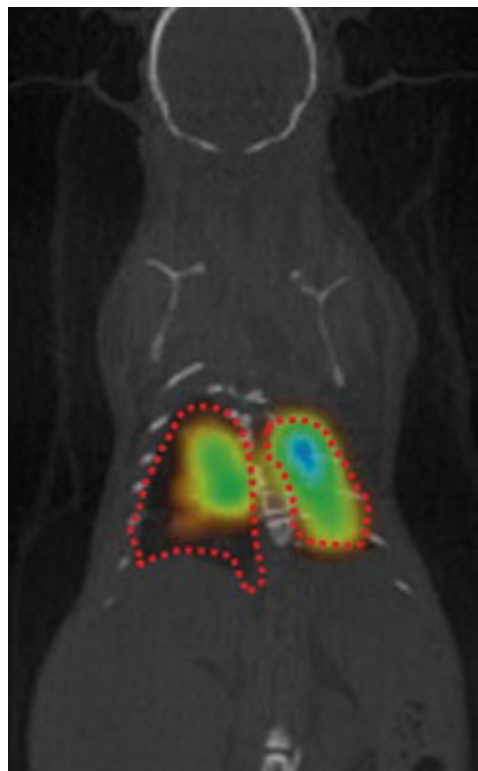
Si bien la fusión de dos modalidades de imagen no se debería considerar como una técnica diferente en sí misma, la complejidad que implica la realización de estos estudios obliga a hacer algunas consideraciones

al respecto. Las diferentes modalidades de imagen ofrecen informaciones complementarias, y de su combinación surgen ventajas adicionales. Para registrar estudios —poner en correspondencia espacial uno a uno todos los puntos de los distintos volúmenes que representan las diferentes modalidades— es necesario eliminar las diferencias de tamaño, de posicionamiento, de orientación o, incluso, de distorsión espacial. El proceso consiste en una búsqueda de la transformación geométrica necesaria para poner las dos imágenes en concordancia y en la aplicación de esa transformación a uno de los estudios (registro), para, posteriormente, hacer una visualización conjunta del resultado (fusión).

Además de estas técnicas informáticas para obtener la imagen multimodalidad, en los últimos años se están desarrollando sistemas híbridos que integran en un solo dispositivo al menos dos modalidades —por ejemplo, el PET-CT, el SPECT-CT o, incluso, la MRI-PET—. Ya están disponibles versiones comerciales de sistemas PET-CT tanto para humanos como para animales; los principales argumentos a favor de estos dispositivos son la posibilidad de hacer las dos exploraciones intrínsecamente registradas, en un tiempo mínimo y sin necesidad de trasladar al paciente. Algo similar ocurre con la instrumentación de imagen molecular para pequeños animales de laboratorio: son varios los grupos de investigación que se están aventurando a integrar varias modalidades en un solo sistema, y empiezan a estar disponibles comercialmente. Estos sistemas ofrecerán nuevas posibilidades al investigador, que podrá desarrollar y caracterizar sondas de imagen y cuantificar sus parámetros con mucha mayor precisión; y ello permitirá, también, una mejor interpretación de los datos. ■



Visión tridimensional de un estudio fundido PET-CT de una rata.



Estudio fundido PET-CT en una ratón, para cuantificar la distribución intrapulmonar de un trazador.



Estudio CT con contraste, donde se observa un tumor en el tórax y la eliminación renal del contraste.